植 物 分 类 学 报 41 (5): 427 - 435 (2003)
Acta Phytotaxonomica Sinica

采用 SSR 和 RAPD 标记研究黄瓜属(葫芦科)的系统发育关系

陈劲枫 庄飞云* 逯明辉 钱春桃 任 刚
(南京农业大学作物遗传与种质创新国家重点实验室 南京 210095)

Phylogenetic relationships in *Cucumis* (Cucurbitaceae) revealed by SSR and RAPD analyses

CHEN Jin-Feng ZHUANG Fei-Yun* LU Ming-Hui QIAN Chun-Tao REN Gang
(*National Key Laboratory of Crop Genetics and Germplasm Enhancement, Nanjing Agricultural University*, Nanjing 210095, China)

Abstract *Cucumis hystrix* is the first wild *Cucumis* species possessing 12 basic chromosomes ever found in Asia. This discovery has posed a challenge to the current subgeneric division of this genus which was made mainly based on the differences in basic chromosome numbers and geographical distribution. The subgenus *Cucumis* with the basic chromosome number of x = 7 is distributed in Asia, whereas the subgenus *Melo* with x = 12 is distributed in eastern Africa. In this study, RAPD and SSR markers were used to investigate the phylogenetic relationships among 22 accessions in *Cucumis*. The genetic distance (GD) values between *C. hystrix* and *C. sativus* var. *sativus* ascribed by SSR and RAPD matrices were 0.59 and 0.57, respectively. The GDs are smaller than those between *C. hystrix* and *C. melo* var. *melo*, 0.87 and 0.70, respectively. The phylogenetic relationships calculated using SSR and RAPD makers agree well with each other, and the correlation between the GDs of SSR and those of RAPD was $r = 0.94$, though the GD value obtained from SSR was higher than that from RAPD and the equation was $y = 0.859x + 0.141$. One hundred and nine SSR and 398 RAPD primed sites were used in cluster analysis. Twenty-two accessions were clustered into two main groups. The CS group consisted of *C. sativus* var. *sativus*, var. *hardwickii*, *C. hytivus*, and *C. hystrix* and the CM group included *C. melo* var. *melo*, var. *conomon*, *C. melo* ssp. *agrestis*, and *C. metuliferus*.

Key words *Cucumis*, Cucurbitaceae, phylogenetic relationship, SSR, RAPD.

摘要 野黄瓜 *Cucumis hystrix* (2n = 24)是在亚洲发现的第一个染色体基数为 12 的黄瓜属物种。这一发现对现行的以染色体基数和地理分布为基础的黄瓜属分类系统提出了质疑。采用 SSR 和 RAPD 两种分子标记对黄瓜属 22 份不同类型材料的亲缘关系进行了研究。结果表明,野黄瓜 *C. hystrix* 与黄瓜 *C. sativus* var. *sativus*(2n = 14)间的遗传距离(SSR: 0.59, RAPD: 0.57)小于其与甜瓜 *C. melo* var. *melo*(2n = 24)间的距离(SSR: 0.87, RAPD: 0.70)。SSR 计算的各物种间遗传距离值高于 RAPD 的结果,线性方程为 $y = 0.859x + 0.141$,但两者相关性较好,$r = 0.94$。综合 109 个 SSR 位点和 398 个 RAPD 条带对 22 份材料进行聚类分析,共分为两群:CS 群(黄瓜、西南野黄瓜 *C. sativus* var. *hardwickii*、*C. hytivus* 及野黄瓜 *C. hystrix*)和 CM 群(甜瓜、菜瓜 *C. melo* var. *conomon*、野生小甜瓜 *C. melo* ssp. *agrestis* 及非洲角黄瓜

2003-01-22 收稿,2003-06-10 收修改稿。
基金项目:国家自然科学基金(30170644);国家高技术研究发展计划专项经费(2001AA241123, 2002AA241251, 2002AA207012);教育部科学技术研究重点项目(重点 01097)(Supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No. 30170644), the National High Technology Research and Development Program (Grant Nos. 2001AA241123, 2002AA241251, and 2002AA207012), and the Ministry of Education of China (Grant No. 01097))。

* 现地址:中国农业科学院蔬菜花卉研究所,北京 100081 (Present address: Institute of Vegetable Crops and Flowers, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China)。

C. metuliferus)。
关键词 黄瓜属; 葫芦科; 亲缘关系; SSR; RAPD

黄瓜属 *Cucumis* L.属于葫芦科 Cucurbitaceae,分为两个亚属:黄瓜亚属 subgen. *Cucumis* 和甜瓜亚属 subgen. *Melo* (Jeffrey, 1980)。甜瓜亚属分布于非洲东部,染色体基数均为 x = 12,分为 6 个系:ser. *Humifructuosi* Stent, ser. *Melo*, ser. *Hirsuti* Kirkbride, ser. *Metuliferi* Kirkbride, ser. *Angurioidei* Kirkbride, ser. *Myriocarpi* Naudin,共 30 个种;黄瓜亚属分布于亚洲,染色体基数均为 x = 7,种类较少,主要是黄瓜 *C. sativus* L.,含有 3 个变种:黄瓜 var. *sativus*,西南野黄瓜 var. *hardwickii* (Royle) Alef.,西双版纳黄瓜 var. *xishuangbannanesis* Qi & Yuan,另一个是只见记载不见标本的野黄瓜 *C. hystrix* Chakr. (Jeffrey, 1980; Kirkbride, 1993)。有关学者曾在研究中提及野黄瓜 (den Nijs & Visser, 1985; Staub et al., 1987; Dane, 1991),但缺乏深入研究。

1990 年,我们在考察西双版纳黄瓜资源时再次发现了野黄瓜 (Chen et al.,1995)。但随后的研究表明这一野生种的染色体数目为 2n = 24 而不是 2n = 14,这个发现对 Jeffrey 的地理起源理论和染色体基数理论提出了质疑 (Chen et al., 1997b)。根据同工酶进一步研究分析,虽然野黄瓜与甜瓜 *C. melo* L.具有同样数目的染色体,但与黄瓜之间的亲缘关系要比与甜瓜之间近 (Chen et al., 1995, 1997a)。基于这些研究结果,Chen 等(1997a)首次成功地实现了黄瓜与野黄瓜的杂交,并通过胚胎拯救、体细胞突变的方法,成功地对正反交杂种进行了染色体加倍,其中以野黄瓜为母本,筛选到了可育的原生双二倍体植株 (2n = 38) (Chen & Adelberg, 2000)。这是目前国际上惟一一个成功的黄瓜属种之间的杂交,被定名为 *Cucumis hytivus* Chen & Kirkbride (Chen & Kirkbride, 2000)。

许多研究表明分子标记是一种非常有效的研究植物亲缘关系的工具 (Burstin et al., 2001; Rossetto et al., 2002)。RAPD 标记由于快速、操作简单且成本低,得到了广泛的应用 (周永红等,1999; 彭建营等,2002)。然而 RAPD 是显性标记,重复性较差,反应条件的任何微小变化都会引起条带数目和强度的改变 (Staub et al., 1996)。SSR (simple sequence repeats,简单序列重复序列) 标记是以 2 – 5 个核苷酸为基本单位的串联重复,广泛存在于基因组中,并呈均一分布。由于其为共显性遗传,重复性好,要求简单,已为遗传学家所关注 (Helm & Hemleben, 1997; Rossetto et al., 2002)。为了更准确地了解野黄瓜和 *C. hytivus* 在黄瓜属中的分类学地位,本文采用 RAPD 和 SSR 两种分子标记,对黄瓜属 22 份不同类型材料进行亲缘关系研究,试图提出更加科学合理的黄瓜属系统分类。

1 材料和方法

1.1 材料

本实验所用材料见表 1。10 个栽培黄瓜为不同生态类型,H1-2、H3-4 和 H6 是 *C. hytivus* 的 3 个不同株系。

1.2 方法

2001 年 2 月下旬开始催芽,育苗,3 月中旬种植于南京农业大学蔬菜实验基地,5 月下旬取材。

表 1 材料来源

Table 1 Origin of materials

代号 Assigned code	品种 Cultivars or lines	类型 Type	来源 Source*	染色体数目 Chromosome number
AC1	*C. sativus* L. var. *sativus* "A309"	美国盐渍型 American pickling	1	2n = 2x = 14
AC2	*C. sativus* var. *sativus* "GY-14"	美国雌性系 American gynoecious	1	2n = 2x = 14
CC2	"白丝条" *C. sativus* var. *sativus* "Baisitiao"	华南型 Southern China	2	2n = 2x = 14
CC4	"津研 4 号" *C. sativus* var. *sativus* "Jinyan No. 4"	华北型 Northern China	2	2n = 2x = 14
CC6	西双版纳黄瓜 2 *C. sativus* var. *xishuangbannanesis* Qi & Yuan sample 2	西南型 Southwestern China	2	2n = 2x = 14
CC7	西双版纳黄瓜 3 *C. sativus* var. *xishuangbannanesis* sample 3	西南型 Southwestern China	2	2n = 2x = 14
EC1	"戴多星" *C. sativus* var. *sativus* "Deltastar"	欧洲温室型 European greenhouse	3	2n = 2x = 14
EC2	"荷蒙" *C. sativus* var. *sativus* "Harmonie"	欧洲盐渍型 European pickling	3	2n = 2x = 14
C1-15-3	回交自交株系 1 *C. hytivus* × *C. sativus* line 1	遗传改良型 Genetically-improved cucumber	4	2n = 2x = 14
C1-6-2	回交自交株系 2 *C. hytivus* × *C. sativus* line 2	遗传改良型 Genetically-improved cucumber	4	2n = 2x = 14
WC1	西南野黄瓜 *C. sativus* var. *hardwickii* (Royle) Alef.	黄瓜变种 Cucumber variety	1	2n = 2x = 14
H1-2	种间杂交种株系 1 *C. hytivus* Chen & Kirkbride line 1	种间杂交种 Interspecific hybrid	4	2n = 4x = 38
H3-4	种间杂交种株系 2 *C. hytivus* line 2	种间杂交种 Interspecific hybrid	4	2n = 4x = 38
H6	种间杂交种株系 3 *C. hytivus* line 3	种间杂交种 Interspecific hybrid	4	2n = 4x = 38
S1	*C. hystrix* Chakr.	近缘野黄瓜 Wild species	4	2n = 2x = 24
M1	"灯瓜" *C. melo* L. var. *conomon* (Thunb.) Makino "Denggua"	菜瓜类型 Conomon	4	2n = 2x = 24
M3	*C. melo* var. *melo* "Vir"	甜瓜 Cultivated melon	3	2n = 2x = 24
M5	*C. melo* var. *melo* "Ogen"	甜瓜 Cultivated melon	3	2n = 2x = 24
M6	*C. melo* var. *melo* "GI"	甜瓜 Cultivated melon	3	2n = 2x = 24
M7	"黄河蜜" *C. melo* var. *melo* "Huanghemi"	甜瓜 Cultivated melon	2	2n = 2x = 24
WM1	*C. melo* ssp. *agrestis* (Naudin) Grebensc.	野生甜瓜 Wild melon	1	2n = 2x = 24
WM3	*C. metuliferus* E. Meyer ex Naudin	非洲角黄瓜 African horned cucumber	1	2n = 2x = 24

* 1,美国威斯康辛大学园艺系；2,中国农业科学院蔬菜花卉研究所；3,荷兰瑞克斯旺种子公司；4,南京农业大学蔬菜研究所。

1, Department of Horticulture, University of Wisconsin-Madison, USA; 2, Institute of Vegetable Crops and Flowers, Chinese Academy of Agricultural Sciences; 3, Rijkzwaan Seed Company, Holland; 4, Vegetable Research Institute, Nanjing Agricultural University, China.

1.2.1 DNA的提取 各试材分别选取15株，取刚展开的健康嫩叶，采用改良的CTAB法（Murray & Thompson, 1980）提取总基因组DNA，加入RNase A（终浓度为100 μg/mL，37 ℃温育20 min）去除RNA，在含有EB的琼脂糖凝胶中电泳，将DNA浓度稀释至40 ng/μL。

1.2.2 SSR扩增 根据Katzir等（1996）和Danin-Poleg等（2001）报道的结果，选取18个SSR标记引物对由上海生工公司代理合成，其中3对引物在试材中未扩增出条带，表2列出了其他15对引物扩增的结果。

表2 22份黄瓜属材料扩增出的SSR等位基因数
Table 2 Description of SSR alleles detected among 22 *Cucumis* accessions

SSR标记 SSR designation[1)]	核心序列 Core motif	等位基因构成 Allelic constitution[2)]							
		C. sativus var. *sativus*	*C. sativus* var. *hardwickii*	*C. hytivus*	*C. hystrix*	*C. melo* var. *melo*	*C. melo* var. *conomon*	*C. melo* ssp. *agrestis*	*C. metuliferus*
From melon genomic library									
CMAG59	$(GA)_2A(AG)_8$	4	3	4	1	1	ns	ns	ns
CMGA104	$(GA)_{14}AA(GA)_3$	4	3	3	2	6	3	3	3
CMCTT144	$(CTT)_{10}CTAC(CTT)_4$	5	3	3	2	6	3	2	2
CMTC47	$(TC)_9(CT)_6$	ns	ns	2	2	4	3	3	4
CMAT141	$(AT)_7(GT)_6$	5	3	6	5	3	3	3	3
CMCCA145	$(CCA)_5$	4	4	6	3	4	4	4	4
CMTC123	$(TC)_9(TTTC)2$	2	2	2	2	2	2	2	2
CMTA170a	$(TA)_9T(TA)_3$	3	3	4	4	4	5	4	2
CMCT170b	$(CT)_8$	2	2	3	3	8	4	4	4
CMGA165	$(GA)_{10}$	3	3	1	ns	5	2	4	5
CMTC160a + b	$(TC)_2(TCC)_2$ $(CT)_8$ N122$(TC)_8$	3	2	3	ns	5	5	5	ns
CMCT505	$(CT)_{15}(AT)_{12}$ $(AC)_{11}(AT)_4$	4	4	4	4	2	2	ns	ns
From cucumber cDNA library									
CSCTTT15a	$(CTTT)_6$	1	1	3	1	2	1	1	ns
From database									
CSAT214	$(AT)_{13}$	8	4	5	ns	ns	ns	ns	ns
CSAT425a	$(AT)_{10}T(TA)_2$	7	4	4	2	1	1	ns	ns
Total number of alleles		54	41	53	31	53	38	35	29

1) SSR位点依照Katzir等(1996)和Danin-Poleg等(2001)。2) ns，无条带。
1) SSR loci described by Katzir et al. (1996) and Danin-Poleg et al. (2001). 2) ns, no signal.

SSR-PCR扩增程序按照Katzir等（1996）的方法进行优化，总反应体积为20 μL，其中包括50 mmol/L KCl、10 mmol/L Tris-HCl（pH 9.0）、2.5 mmol/L $MgCl_2$、150 μmol/L dNTPs（上海生工公司）、0.67 nmol/L 3′和5′引物、40 ng模板DNA，1 U *Taq* DNA聚合酶（上海生工公司）。扩增反应在PTC-100 PCR仪中进行，反应条件为：94 ℃ 5 min；94 ℃ 30 s，55 ℃ 30 s，72 ℃ 80 s，35个循环；72 ℃延伸5 min，最后在4 ℃下保存。PCR产物在9%聚丙烯酰胺凝胶上电泳，采用改良的Charters等(1996)的银染方法检测。

1.2.3 RAPD扩增 反应体系和条件均参照Staub等（1997)的方法。选用240条上海生

工公司（A－K 和 AH）和 Operon 公司 20 条（OPI）随机引物，先选用 4 个模板 DNA 进行筛选，共有 120 条产生清晰的条带，经重复扩增，最终选出了 31 条引物进行各试材的多态性分析。

1.2.4 数据处理　SSR 和 RAPD 产物以“0”和“1”进行统计，应用 Jaccard 公式 $J_{ij} = a/(a+b)$（a 为两种共同拥有的条带数，b 为仅在一个种中出现的条带数总和）计算各试材间的相似系数，遗传距离为 $D = 1 - J_{ij}$，采用 Microsoft Excel 进行 SSR 和 RAPD 标记遗传距离的相关性分析。根据两种标记数据，采用 PHYLIP 3.5c 版本软件对群体进行 UPGMA 聚类分析。

2 结果分析

2.1 SSR 标记分析

除 CMTC47 外，其他 14 个 SSR 标记在 10 个不同生态型黄瓜中都扩增出了条带，其中 9 个（64％）表现出多态性，等位基因位点数一般在 1－8 个之间，共检到 54 个 SSR 等位基因位点；在西南野黄瓜中，14 个 SSR 标记共产生 41 个等位基因。

15 个 SSR 标记在 *C. hytivus* 中共产生 53 个等位基因位点，其中 CSCTTT15a、CMTC160a＋b、CMCCA145 和 CMGA165 分别产生 1 条特征带。除 CMGA165、CMTC160a＋b 和 CMAT214 外，其他 12 个 SSR 标记在野黄瓜中共产生 31 个等位基因，其中 6 个为特异性位点，分别由 CSAT425、CMAG59、CMCCA145、CMAT141 和 CMTA170a 产生。

除 CSAT214 外，14 个 SSR 标记在 4 种甜瓜中产生 53 个等位基因位点，其中 8 个 SSR 标记表现出多态性。菜瓜产生 38 个等位基因，其中 CMAG59 和 CSAT214 两个标记没有产生条带。野生小甜瓜产生 35 个等位基因，其中 CMAG59、CMCT505、CSAT214 和 CSAT425a 4 个标记没有产生条带。非洲角黄瓜产生 28 个等位基因位点，其中 6 个标记（CMAG59、CMTC160a＋b、CMCT505、CSCTTT15a、CSAT214 和 CSAT425a）没有产生条带。

用 109 个 SSR 等位基因来进行 22 份试材的遗传距离分析（表 3）。黄瓜和西南野黄瓜之间的平均遗传距离为 0.42，这一数值明显小于 Danin-Poleg 等（2001）报道的结果（0.92）。6 种生态型甜瓜之间的平均遗传距离为 0.53，与前人报道的结果相似（Staub et al., 2000; Danin-Poleg et al., 2001）。野黄瓜和黄瓜之间的平均遗传距离为 0.59，显著小于野黄瓜和甜瓜之间的平均遗传距离 0.87，这与形态学（Kirkbride, 1993）和同工酶分析（Chen et al., 1997b）结果一致。*C. hytivus* 和其两个原始亲本的遗传距离相同，为 0.41。非洲角黄瓜与甜瓜和黄瓜的亲缘关系较远，平均遗传距离分别为 0.77 和0.85。

2.2 RAPD 标记分析

经重复扩增筛选，最终选用 31 条随机引物产生的 398 个条带进行各试材间的亲缘关系分析（表 4）。与 SSR 标记的结果相比，RAPD 标记测定的遗传距离较小，线性方程为 $y = 0.859x + 0.141$（表 3，4；图 1）。野黄瓜和黄瓜之间的平均遗传距离为 0.57，小于野黄瓜和甜瓜之间的平均遗传距离 0.70，这进一步证实了野黄瓜与黄瓜比与甜瓜亲缘关系更近（Chen et al.，1997a）。*C. hytivus* 与原始亲本黄瓜之间的遗传距离为 0.34，小于与亲本野黄瓜间的遗传距离 0.41，这与 SSR 标记的结果有所差异。

表3 SSR标记计算的黄瓜属一些分类群之间的遗传距离平均值(上方)和范围(下方)
Table 3 Means (above the diagonal) and ranges (below the diagonal) of genetic distances between taxa of *Cucumis* based on SSR markers

种名 Species	*C. sativus* var. *sativus*	*C. sativus* var. *hardwickii*	*C. hytivus*	*C. hystrix*	*C. melo* var. *melo*	*C. melo* var. *conomon*	*C. melo* ssp. *agrestis*	*C. metuliferus*
C. sativus var. *sativus*	-	0.42	0.41	0.59	0.79	0.79	0.84	0.85
C. sativus var. *hardwickii*	0.36-0.46	-	0.55	0.64	0.82	0.78	0.85	0.85
C. hytivus	0.32-0.56	0.55-0.55	-	0.41	0.82	0.80	0.84	0.88
C. hystrix	0.54-0.65	0.64-0.64	0.40-0.41	-	0.87	0.85	0.88	0.85
C. melo var. *melo*	0.72-0.85	0.81-0.83	0.76-0.86	0.80-0.92	-	0.53	0.50	0.77
C. melo var. *conomon*	0.78-0.80	0.78-0.78	0.80-0.80	0.85-0.85	0.40-0.66	-	0.41	0.69
C. melo ssp. *agrestis*	0.83-0.85	0.85-0.85	0.84-0.84	0.88-0.88	0.39-0.61	0.41-0.41	-	0.52
C. metuliferus	0.86-0.84	0.85-0.85	0.88-0.88	0.85-0.85	0.73-0.82	0.69-0.69	0.52-0.52	-

表4 RAPD标记计算的黄瓜属一些分类群之间的遗传距离平均值(上方)和范围(下方)
Table 4 Means (above the diagonal) and ranges (below the diagonal) of genetic distances between taxa of *Cucumis* based on RAPD markers

种名 Species	*C. sativus* var. *sativus*	*C. sativus* var. *hardwickii*	*C. hytivus*	*C. hystrix*	*C. melo* var. *melo*	*C. melo* var. *conomon*	*C. melo* ssp. *agrestis*	*C. metuliferus*
C. sativus var. *sativus*	-	0.27	0.34	0.57	0.74	0.71	0.75	0.70
C. sativus var. *hardwickii*	0.23-0.34	-	0.38	0.54	0.73	0.70	0.74	0.68
C. hytivus	0.30-0.37	0.35-0.40	-	0.41	0.72	0.69	0.73	0.69
C. hystrix	0.55-0.59	0.54-0.54	0.40-0.42	-	0.70	0.67	0.72	0.71
C. melo var. *melo*	0.71-0.78	0.72-0.75	0.69-0.74	0.68-0.72	-	0.29	0.27	0.67
C. melo var. *conomon*	0.70-0.72	0.70-0.70	0.68-0.70	0.67-0.67	0.21-0.33	-	0.29	0.64
C. melo ssp. *agrestis*	0.74-0.77	0.74-0.74	0.73-0.74	0.72-0.72	0.24-0.31	0.29-0.29	-	0.66
C. metuliferus	0.69-0.72	0.68-0.68	0.68-0.70	0.71-0.71	0.64-0.68	0.64-0.64	0.66-0.66	-

2.3 两种标记对黄瓜属物种亲缘关系的分析

结合不同的分子标记分析结果,才能对植物的系统亲缘关系作出更准确的评价。通过对SSR和RAPD标记遗传距离的成对比较分析,其相关性 r 值高达0.94(图1)。将109个SSR和398个RAPD条带进行聚类分析(图2)。支点1可将黄瓜属试材分为两群:CS

群包括10个黄瓜品种、西南野黄瓜、*C. hytivus* 和野黄瓜；CM群体包括4个甜瓜品种、菜瓜、野生小甜瓜和非洲角黄瓜。尽管非洲角黄瓜归于CM群体，但与其他甜瓜材料相距较远（支点2），这与遗传距离分析结果相一致（表3，4）。支点3将野黄瓜与 *C. hytivus*、黄瓜和西南野黄瓜区分开。*C. hytivus* 位于它两个原始亲本之间（支点4）。野生小甜瓜与甜瓜之间的亲缘关系比与菜瓜间的近（支点5），这与 Akashi 等（2002）的研究结果一致。

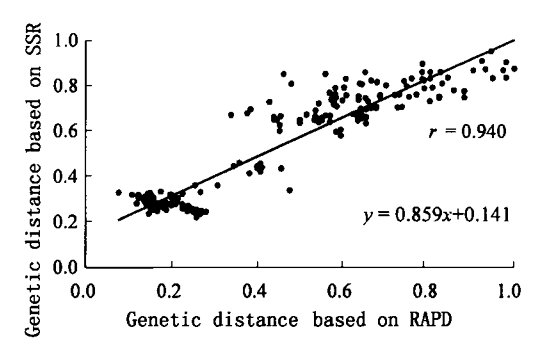


图1　SSR和RAPD标记计算的遗传距离相关性

Fig. 1.　Correlation between genetic distance from SSR and RAPD markers.

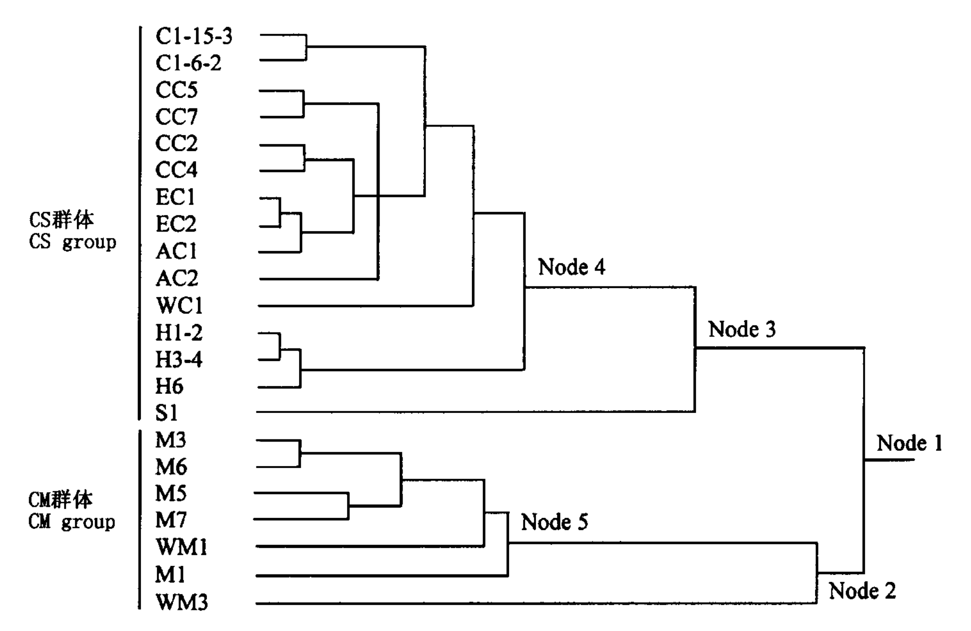


图2　基于109个SSR和398个RAPD条带用UPGMA聚类分析得到的22个黄瓜属类型的树状关系图（图中试材代号与表1同）

Fig. 2.　Dendrogram from cluster analysis of 22 *Cucumis* accessions based on 109 SSR and 398 RAPD bands. The assigned codes represent cultivars or lines the same as in Table 1.

3　讨　论

本研究获得了一些与前人不同的结果，如扩增的SSR标记的等位基因数目（1－8个）多于前人的报道（1－6个）；黄瓜的总等位基因数为54个，要多于 Danin-Poleg 等（2001）的研究结果（约31个），其原因可能是所使用的检测方法和试验群体不同。虽然本研究中的退火温度（55 ℃）比 Katzir 等（1996）提高了4 ℃，但扩增产物中仍出现较多的弱带，可能是引物与DNA之间的错配引起的。

不少学者已从形态学（Kirkbride, 1993; Akashi et al., 2002）、细胞学（Dane, 1991）、同

工酶（Knerr et al., 1989; Akashi et al., 2002）和 DNA 差异（Perl-Treves & Galun, 1985; Wilson et al., 1992)等方面对黄瓜属物种间的亲缘关系进行了研究。从染色体数目角度，野黄瓜 *C. hystrix* 应归入甜瓜亚属,但从地理起源来看,应归入黄瓜亚属。我们在杂交亲和性、同工酶、RAPD 及 SSR 标记所获得的研究结果表明,野黄瓜与黄瓜间存在较近的亲缘关系,印证了 Jeffrey（1980）的地理起源理论,即起源于亚洲的物种之间亲缘关系较近，但与其提出的以染色体基数作为划分黄瓜属为 2 个亚属的理论相矛盾。

Mallick 和 Masui（1986）认为非洲角黄瓜是甜瓜的祖先,西南野黄瓜是甜瓜的后裔,并继续演化成现有的黄瓜。从本试验结果看,3 个物种间的遗传距离呈逐渐增加的趋势:非洲角黄瓜和甜瓜的遗传距离为 0.77（SSR）和0.67（RAPD),非洲角黄瓜和黄瓜的遗传距离为 0.85（SSR）和 0.70（RAPD),基本上支持 Mallick 和 Masui 的观点,也就表明黄瓜属中 $x=7$ 的物种很可能起源于 $x=12$ 的物种（Raamsdonk et al., 1989; Singh, 1990)。但西南野黄瓜是否直接起源于甜瓜还有待进一步证实。

根据板块学说,在 3000 万年前非洲东南部与印度半岛相连（McElhinney, 1973),野黄瓜可能是伴随着亚洲大陆诞生进化而成的一个黄瓜属分支。野黄瓜与西南野黄瓜的遗传距离为 0.64（SSR）和 0.54（RAPD),显著小于甜瓜与西南野黄瓜间的遗传距离 0.82（SSR）和 0.73（RAPD),而且聚类结果也显示野黄瓜与西南野黄瓜存在较近的亲缘关系（图 2),因此,野黄瓜很可能是介于甜瓜和西南野黄瓜之间的中间种,但还需要进一步的研究工作加以论证。

参 考 文 献

Akashi Y, Fukuda N, Wako T, Masuda M, Kato K. 2002. Genetic variation and phylogenetic relationships in east and south Asian melons, *Cucumis melo* L., based on the analysis of five isozymes. Euphytica 125: 385 – 396.

Burstin J, Deniot G, Potier J, Weinachter C, Aubert G, Baranger A. 2001. Microsatellite polymorphism in *Pisum sativum*. Plant Breeding 120: 311 – 317.

Charters Y M, Robertson A, Wilkinson M J, Ramsay G. 1996. PCR analysis of oilseed rape cultivars (*Brassica napus* L. ssp. *oleifera*) using 5′-anchored simple sequence repeat (SSR) primers. Theoretical and Applied Genetics 92: 442 – 447.

Chen J F, Adelberg J. 2000. Interspecific hybridization in *Cucumis*—Progress, problem, and perspectives. HortScience 35: 11 – 15.

Chen J F, Isshiki S, Tashiro Y, Miyazaki S. 1995. Studies on a wild cucumber from China (*Cucumis hystrix* Chakr.). I. Genetic distances between *C. hystrix* and two cultivated *Cucumis* species (*C. sativus* L. and *C. melo* L.) based on isozyme analysis. Journal of the Japanese Society for Horticultural Science 64 (suppl. 2): 264 – 265.

Chen J F, Isshiki S, Tashiro Y, Miyazaki S. 1997a. Biochemical affinities between *Cucumis hystrix* Chakr. and two cultivated *Cucumis* species. Euphytica 97: 139 – 141.

Chen J F, Kirkbride J. 2000. A new synthetic species of *Cucumis* (Cucurbitaceae) from interspecific hybridization and chromosome doubling. Brittonia 52: 315 – 319.

Chen J F, Staub J E, Tashiro Y, Isshiki S, Miyazaki S. 1997b. Successful interspecific hybridization between *Cucumis sativus* L. and *Cucumis hystrix* Chakr. Euphytica 96: 413 – 419.

Dane F. 1991. Cytogenetics of the genus *Cucumis*. In: Tsuchiya T, Gupta P K eds. Chromosome Engineering in Plants: Genetics, Breeding, Evolution. Part B. New York: Elsevier. 201 – 214.

Danin-Poleg Y, Reis N, Tzuri G, Katzir N. 2001. Development and characterization of microsatellite markers in *Cucumis*. Theoretical and Applied Genetics 102: 61 – 72.

den Nijs A P M, Visser D L. 1985. Relationships between African species of the genus *Cucumis* L. estimated by the production, vigour and fertility of F_1 hybrids. Euphytica 34: 279 - 290.

Helm M A, Hemleben V. 1997. Characterization of a new prominent satellite DNA of *Cucumis metuliferus* and differential distribution of satellite DNA in cultivated and wild species of *Cucumis* and in related genera of Cucurbitaceae. Euphytica 94: 219 - 226.

Jeffrey C. 1980. A review of the genus *Cucumis*. Botanical Journal of the Linnean Society 81: 233 - 247.

Katzir N, Danin-Poleg Y, Tzuri G, Karchi Z, Lavi U, Cregan P B. 1996. Length polymorphism and homologies of microsatellites in several Cucurbitaceae species. Theoretical and Applied Genetics 93: 1282 - 1290.

Kirkbride J H Jr. 1993. Biosystematic Monograph of the Genus *Cucumis* (Cucurbitaceae). Boone: Parkway Publishers. 84 - 88.

Knerr L D, Staub J E, Holder D J, May B P. 1989. Genetic diversity in *Cucumis sativus* L. assessed by variation at 18 allozyme coding loci. Theoretical and Applied Genetics 78: 119 - 128.

Mallick M F R, Masui M. 1986. Origin, distribution and taxonomy of melons. Scientia Horticulturae 28: 251 - 261.

McElhinney M W. 1973. Palaeomagnetism and Plate Tectonics. Cambridge: Cambridge University Press. 358.

Murray H G, Thompson W F. 1980. Rapid isolation of higher weight DNA. Nucleic Acids Research 8: 4321.

Peng J-Y (彭建营), Shu H-R (束怀瑞), Peng T-Q (彭士琪). 2002. To address the problem of infraspecific classification of *Ziziphus jujuba* Mill. using RAPD data. Acta Phytotaxonomica Sinica (植物分类学报) 40: 89 - 94.

Perl-Treves R, Galun E. 1985. The *Cucumis* plastome: physical map, intrageneric variation and phylogenetic relationships. Theoretical and Applied Genetics 71: 417 - 429.

Raamsdonk L W D, den Nijs A P W, Jongerius M C. 1989. Meiotic analysis of *Cucumis* hybrids and evolutionary evaluation of the genus *Cucumis* (Cucurbitaceae). Plant Systematics and Evolution 163: 133 - 146.

Rossetto M, McNally J, Henry R J. 2002. Evaluating the potential of SSR flanking regions for examining taxonomic relationships in the Vitaceae. Theoretical and Applied Genetics 104: 61 - 66.

Singh A K. 1990. Cytogenetics and evolution in the Cucurbitaceae. In: Bates D M, Robinson R W, Jeffrey C eds. Biology and Utilization of the Cucurbitaceae. Ithaca: Cornell University Press. 10 - 28.

Staub J E, Bacher J, Poetter K. 1996. Sources of potential errors in the application of RAPD in cucumber. HortScience 31: 262 - 266.

Staub J E, Box J, Meglic V, Horejsi T F, McCreigh J D. 1997. Comparison of isozyme and random amplified polymorphic DNA data for determining intraspecific variation in *Cucumis*. Genetic Resources and Crop Evolution 44: 257 - 269.

Staub J E, Danin-Poleg Y, Fazio G, Horejsi T, Reis N, Katzir N. 2000. Comparative analysis of cultivated melon groups (*C. melo* L.) using random amplified polymorphic DNA and simple sequence repeat markers. Euphytica 115: 225 - 241.

Staub J E, Fredrick L, Marty T L. 1987. Electrophoretic variation in cross-compatible wild diploid species of *Cucumis*. Canadian Journal of Botany 65: 792 - 798.

Wilson H D, Doebley J, Duvall M. 1992. Chloroplast DNA diversity among wild and cultivated members of *Cucurbita* (Cucurbitaceae). Theoretical and Applied Genetics 84: 859 - 865.

Zhou Y-H (周永红), Zheng Y-L (郑有良), Yang J-L (杨俊良), Yan J (颜济), Jia J-Z (贾继增). 1999. Phylogenetic relationships among ten *Elymus* species based on random amplified polymorphic DNA. Acta Phytotaxonomica Sinica (植物分类学报) 37: 425 - 432.